

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 02-309249

(43)Date of publication of application : 25.12.1990

(51)Int.Cl.

G01N 27/447

C07K 3/14

(21)Application number : 01-130583

(71)Applicant : SHIMADZU CORP

(22)Date of filing : 24.05.1989

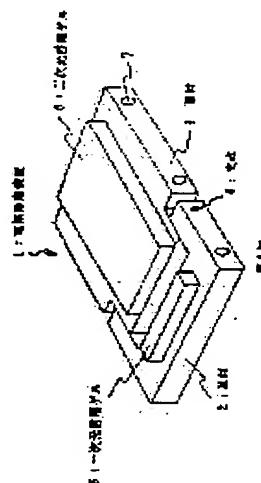
(72)Inventor : NAKAMURA SHIN

(54) GEL SUPPORT FOR TWO-DIMENSIONAL ELECTROPHORETIC APPARATUS AND TWO-DIMENSIONAL ELECTROPHORETIC METHOD

(57)Abstract:

PURPOSE: To easily perform the contact of a unidimensional gel and a two-dimensional gel with good reproducibility by simple operation by forming a base material fixing and holding a migration gel into a structure bent between the unidimensional and two-dimensional gels.

CONSTITUTION: Base materials 2, 3 are separated along a fulcrum 4 in an electrophoretic apparatus 1 and formed into a freely bendable structure. Each of the cross-sections of the base materials 2, 3 takes a structure forming one recirculation passage for controlling temp. A unidimensional gel 5 and a two-dimensional gel 6 are respectively fixed and held to the base materials 2, 3 in parallel. A ready-made gel for two-dimensional electrophoresis is supplied in a form of a vacuum pack.



⑬ 日本国特許庁(JP)

⑭ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平2-309249

⑮ Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成2年(1990)12月25日

G 01 N 27/447
C 07 K 3/14

8619-4H
9013-2G

G 01 N 27/26 3 1 5 H

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全5頁)

⑯ 発明の名称 二次元電気泳動装置用ゲル支持体および二次元電気泳動方法

⑰ 特 願 平1-130583

⑱ 出 願 平1(1989)5月24日

⑲ 発 明 者 中 村 伸 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三条工場内

⑳ 出 願 人 株式会社島津製作所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

㉑ 代 理 人 弁理士 武石 靖彦

明 細 書

1. 発明の名称

二次元電気泳動装置用ゲル支持体および二次元電気泳動方法

2. 特許請求の範囲

(1) 折り曲り可能な支持体の折り曲り箇所を挟む位置に、一次元目ゲルと二次元目ゲルとを別々に載置してなる二次元電気泳動装置用ゲル支持体。

(2) 請求項第1項の支持体の一次元目ゲルによる泳動を行った後、一次元目ゲル泳動部を二次元目ゲル泳動部に折り曲げて接合させ、一次元目ゲルと二次元目ゲルとを固定・支持した状態で二次元目泳動を行うことを特徴とする二次元電気泳動方法。

3. 発明の詳細な説明

A. 産業上の利用分野

本発明は、生化学・臨床分析などの分野で利用される電気泳動装置に関する。

B. 従来技術

電気泳動装置は、液体中の荷電物質が電場にお

かれたとき、その電荷と符号が逆の電極に向って移動する現象を利用して分析・分離を行う装置である。移動速度は電場の強さや媒質のpH、イオン強度、誘電率、温度などに影響されるが、これらの条件が一定ならば、荷電量、大きさ、形状、溶液の粘性など試料物質固有の値によって決まるので、泳動速度差によって物質の分離ができ、混合物の成分分析、精製試料の純度検定などに威力を発揮する。とくにバイオ関連技術においては、小さなイオンに始まり、タンパク質や核酸のような生体高分子から、オルガネラや細胞まで、様々な荷電粒子を扱うので、その有効性は高く、DNAの塩基配列決定、微量タンパク質の分析など種々の物質の分離分析に利用されている。

ゲル電気泳動法は、他のいくつかの電気泳動法に比べてゲルの分子ふるい効果に優れ、高い分解能が得られるので、現在主流になっている方法である。そしてゲルをガラス管内に作るチューブゲル電気泳動装置と、平行な二枚のガラスあるいはプラスチック板の間に作るスラブゲル電気泳動装

置がある。

前記したスラブゲル電気泳動を一次元目泳動に利用した二次元目泳動は、従来下記のように行っていた。

- ① 2枚のガラス板とスペーサを用いてゲル溶液を注入しスラブゲルを作成し、
- ② 一次元目泳動終了後、一次元目のゲルをチューブより取り出したり、スラブより1レーンだけ切り出して取り出し、
- ③ それを二次元目ゲルの所定位置において二次元目泳動を行わせる。

C. 発明が解決しようとする課題

前記した従来技術は、ゲルの取り扱いや、作成にはかなりの習熟を要するものであり、簡単に操作することが困難であった。この結果、泳動分離の再現性や分離能に影響を及ぼし、安定した操作ができないという問題があった。

本発明は前記した従来技術の課題を解決するため、折り曲げ可能な基材上で一次元目ゲルを泳動させ、つぎに基材を折り曲げて、一次元目ゲルを

二次元目ゲルに接合させ、一次元目ゲルと二次元目ゲルとを固定・保持した状態で電気泳動することにより、二次元電気泳動用ゲルを既製化できるので、二次元電気泳動法自体の研究分野の裾野を広げるとともに作成における複雑な作業をなくすことを目的とする。本発明の第2の目的は、一次元目ゲルと二次元目ゲルの接合を容易にかつ再現性よく行うことにある。本発明の第3の目的は、泳動時の温調を行い泳動分離能の向上を図ることにある。

D. 課題を解決するための手段

前記目的を達成するため本発明は下記の構成からなる。

すなわち本発明は、(1)折り曲り可能な支持体の折り曲り箇所を挟む位置に、一次元目ゲルと二次元目ゲルとを別々に載置してなる二次元電気泳動装置用ゲル支持体、及び、(2)前記第(1)項の支持体の一次元目ゲルによる泳動を行った後、一次元目ゲル泳動部を二次元目ゲル泳動部に折り曲げて接合させ、一次元目ゲルと二次元目ゲルとを固定・

支持した状態で二次元目泳動を行うことを特徴とする二次元電気泳動方法である。

本発明において^{ゲル支持体用}基材とは、ガラスのようなプレート板であってもよいし、樹脂フィルムや樹脂シートのようなものであってもよい。また折れ曲り部は、ヒンジ機構などであってもよいし、フィルムやシートの場合はそれ自体の特性によって曲がるものであってもよい。

本発明の温度調節機構は公知のいかなるものであってもよい。例えば冷却水の循環や、ペリチエ素子による温度コントロール等である。

以下本発明の特徴的要件を列記する。

- (1) 泳動用ゲルを基材に固定・保持する手段を有する。
- (2) 基材が一次元目ゲルと二次元目ゲルとの間で折れ曲がる構造である。
- (3) 基材が温調できる構造である。

E. 作用

ゲルを基材に固定・保持されているので取り扱いが容易である。又、一次元目ゲルと二次元目ゲ

ルとの接合も容易にかつ再現よく行なわれる。又、基材が温調できるので泳動時の冷却温調が可能である。

F. 実施例

以下実施例を用いて本発明をさらに詳細に説明する。

実施例1

第1図～第5図は本発明の一実施態様である。第1図の番号1が全体の電気泳動装置図である。二次元電気泳動用既製ゲルは真空パックされた形で供給される。この装置は、支点4を境にして基材2、3が分かれており自由に折れ曲がる構造になっている。基材2、3の断面には、各々一つの循環路を形成する様な構造をとっており、外部より配管を接続することにより温度調整のための循環流路を形成するものである。基材2の上には一次元目用ゲル、基材3の上には二次元目用ゲルが、各々に平行になるよう固定・保持されている。

番号7は温度調節用循環流体の流通口である。

第2図に一次元目泳動の概略図を示す。+、-

の電極槽を設置し、電極液を槽に満たす。ろ紙、スポンジなどで一次元目ゲルと各々架橋を行い、ゲルと電極液との接液を行う。そして電極間に電圧を印加して泳動を行うものである。この時、基材2中に循環流体を流し、外部の温調装置(図示せず)により泳動中の冷却温調を行う。試料は一次元目ゲルの上に直接添加すればよい。

次に第4図、第5図に示すように、一次元目の泳動終了後、一次元目ゲル5と二次元目ゲル6との接合を、支点4を中心に基材2と3を折り曲げて行う。接合状態は第4図、第5図のどちらであってもよい。

第3図に二次元目泳動の概略図を示す。一次元目の時と同様に+、-の電極槽を設置し、各々電極液を満たし、ろ紙などで電極液とゲルを架橋して電極間に電圧を印加して泳動を行う。この時、基材3中に循環流体を流し、外部の温調装置により、泳動中の冷却温調を行う。

上記の通り本発明によれば、二次元電気泳動用ゲルを既製化でき、操作が簡単で、一次元目ゲル

と二次元目ゲルの接合を容易にかつ再現性よく行うことが確認できた。また、泳動時の温度調節により、泳動分離能の向上を図ることが確認できた。

実施例2

以下第6図～第10図を用いて、本発明の別の実施例を説明する。

基材として、ポリエステルなどのフィルム基材8を用い、このフィルム表面にアクリルアミドと共有結合を起こすような処理(たとえばシランカップリング処理)を行ったものを用いる。フィルム基材8の裏面は粘着材処理が施されている。一次元目ゲル5と、二次元目ゲル6とは、切り目(スリット)9を境にして、第6図に示すよう対向してフィルム基材8に固定・保持されている。また、フィルム基材8は、切り目(スリット)9で折れ曲がる構造になっている。

第8図～第9図は、一次元目泳動の概略を示す。10は高熱伝導の材料に、絶縁膜処理を行った温調プレートである。高熱伝導の材料としては、たとえばアルミニウムなどの金属材料などである。

絶縁膜処理としては、たとえばフィルムを貼ったり、コーティング処理したものなどである。

リッド11は、の各電極槽12、13と、電極液とゲルを接液させるためのフィルタ14(たとえばポーラスな樹脂またはセラミック製)を有した構造である。温度調節は、ペリチユ素子15などの温度コントロール素子で行う。16はサンプルポートである。

第10図は、二次元目泳動の概略を示す。リッド21も第8図と同様に電極槽22、23とフィルタ24を有する構造になっている。

さらに、図示してはいないが、温度調節、電圧、電流、時間などのモニタや制御は、コンピュータ(CPU)により行ってもよい。

以下第6図～第10図に示す実施例のプロセスを説明する。

- (1) 泳動用ゲルの基材裏面のフィルムをはがし粘着材面をあらわにして温調プレートの所定位置に貼りつける(第7図(a))。
- (2) 電圧、電流、時間etcのパラメータをセット

し、一次元目用リッド11を倒してゲル上にふたをして電極液を満たして一次元目泳動をスタートする。サンプルはサンプルポート16よりマイクロシリンジでゲル上に直接のせる。泳動中、ペリチユ素子15などにより、プレート10は冷却温調される。

(3) 一次元目泳動終了後、第7図(b)のように一次元目ゲルの部位を折り曲げ二次元目ゲル上に接合して重ね、穴の部位をピンなどで固定し、接合状態をつくる。

(4) 二次元目用リッド21を倒し、ゲル上にふたをして、電極液を満たして二次元目泳動を行う。

(5) 泳動終了後、ゲルを基材ごと温調プレートよりはがして、固定化・染色・処理を行う。

[変形例]

本発明の応用例として、電極液(buffer)の送液や、リッドの動作・サンプリングなどを自動化することにより、全自動二次元電気泳動装置とすることもできる。

G. 発明の効果

本発明は、折り曲げ可能な基材上で一次元目ゲルを泳動させ、つぎに基材を折り曲げて、一次元目ゲルを二次元目ゲルに接合させ、一次元目ゲルと二次元目ゲルとを固定・保持した状態で電気泳動させるようにしたので、二次元電気泳動用ゲルを既製品化でき、操作が簡単で、一次元目ゲルと二次元目ゲルの接合を容易にかつ再現性よく行うことができた。また、泳動時の温度調節により、泳動分離能の向上を図ることができた。

より具体的には、下記のとおりである。

(イ) 一次元目用、二次元目用ゲルを基材上に固定・保持する形で一緒に既製品化することにより
①作成時の繁雑な作業がなくなる。②ゲルの取扱いが容易になる。

(ロ) 基材が折れ曲がることにより一次元目ゲルと二次元目ゲルの接合が容易になるとともに接合位置の再現性も向上する。

(ハ) 基材が温度調節できる構造なので、泳動中の熱対流によるゾーンの歪みによる分離能の低下が防げる。

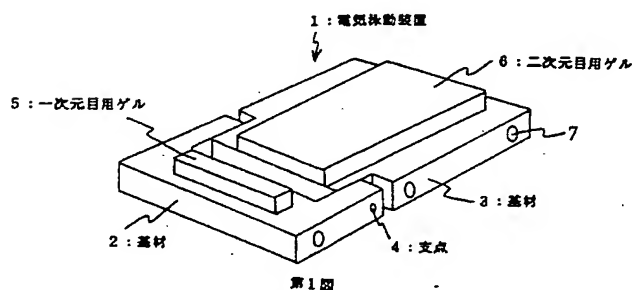
4. 図面の簡単な説明

第1図～第5図は本発明の一実施態様を示す。

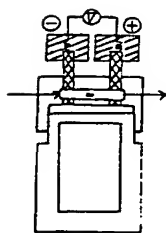
第6図～第10図は本発明の別の実施態様を示す。

- | | |
|--------------|-------------|
| 1 : 電気泳動装置 | 2, 3 : 基材 |
| 4 : 支点 | 5 : 一次元目用ゲル |
| 6 : 二次元目用ゲル | 8 : フィルム基材 |
| 10 : 温度プレート | 11 : リッド |
| 12, 13 : 電極槽 | 14 : フィルタ |
| 16 : サンプルポート | |

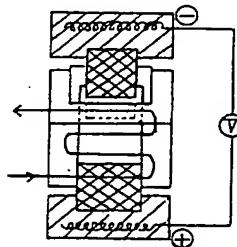
特許出願人 株式会社島津製作所
同 代理人 弁理士 武石 靖彦



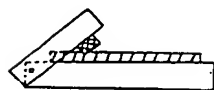
第1図



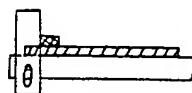
第2図



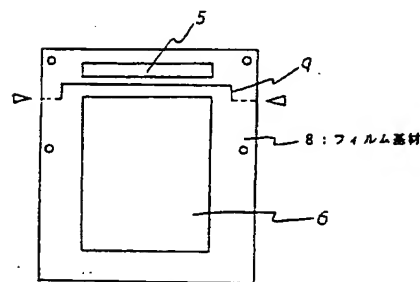
第3図



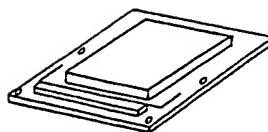
第4図



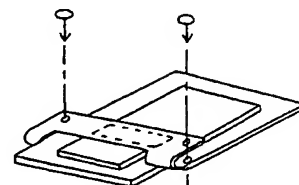
第5図



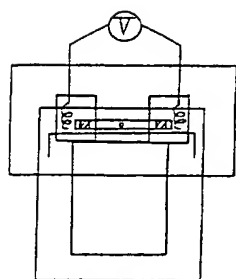
第6図



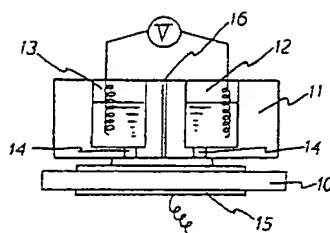
第7図(a)



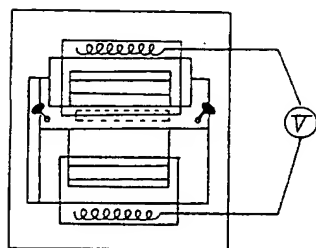
第7図(b)



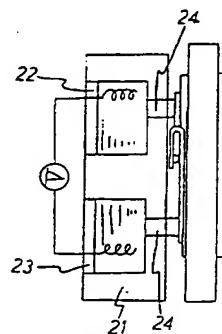
第9図



第8図



第10図(a)



第10図(b)